

Embryogenèse somatique et transfert de gènes chez le cotonnier, *Gossypium hirsutum* L.

Catherine PANNETIER^{1,2}, Emilie MONTES², Bariaa HAMADEH^{1,2}, Maité OBELLIANNE^{1,2}, Oumaya BOUCHABKE^{1,2}

1: CIRAD Département PERSYST UR 102, Av Agropolis 34398 Montpellier cedex 5 France

2: Laboratoire de Biologie Cellulaire INRA Centre de Versailles-Grignon 78026 Versailles cedex France
catherine.pannetier@cirad.fr

La transformation *via Agrobacterium* et la régénération par embryogenèse somatique est la méthode la plus couramment utilisée pour l'obtention de cotonniers transgéniques. Bien que le cotonnier soit au quatrième rang des plantes transgéniques cultivées dans le monde, en terme de surface, l'obtention de cotonniers transformés est encore un processus qui présente plusieurs limites majeures. Dans la plupart des méthodes publiées, le délai de régénération est encore le plus souvent de 8-10 mois auxquels il faut ajouter 5 à 6 mois pour obtenir les graines T1. Le taux de conversion des embryons somatiques en plantules est faible et on observe sur les plantes transférées en sol, différentes variations (développement floral, stérilité totale ou partiel) induites par la culture *in vitro*.

Différentes études ont été conduites pour améliorer les performances du procédé de régénération de cotonniers transformés: elles portent sur le choix de la souche d'*A. tumefaciens*, la séquence de milieux de culture, les conditions de développement des embryons somatiques. Les rendements des différentes étapes depuis l'inoculation des explants par la souche d'*Agrobacterium* jusqu'à l'obtention de graines issues des transformants primaires sont présentés. Les cultures embryogènes sont anergiées et peuvent se multiplier pendant de nombreux mois sur des milieux dépourvus de substances de croissance. Une différence très significative du taux d'AIA endogène des cals primaires et des souches embryogènes a été mise en évidence et permet d'expliquer le caractère anergié de ces cultures.

Le procédé est largement génotype dépendant et nous travaillons avec une variété, la variété Coker 310, qui présente de bonnes potentialités de régénération. Le matériel végétal est constitué d'explants d'hypocotyles issus de germinations réalisées en conditions aseptiques. Bien qu'il s'agisse de lignées pures, au sens du sélectionneur, nous observons une forte variabilité de réponse entre lots de graine selon leur origine ainsi qu'au sein d'un même lot. Une sélection effectuée sur la base des performances en embryogenèse a permis de réduire cette variabilité et d'augmenter le taux d'embryogenèse. De plus, il a été possible, en sélectionnant les graines utilisées, d'obtenir la néoformation d'embryons sur des milieux dépourvus de substances de croissance.